

博士論文審査報告書

氏名	在間 健悟 (アリマ ケンゴ)
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	論博理第 2 1 号
学位授与報告番号	乙第 6 3 号
学位授与年月日	平成 3 0 年 9 月 2 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条 2 項
論文題目	植物の細胞板挿入位置決定機構 「Determination mechanism of plant cell-plate insertion site」
論文審査委員	(主査) 教 授 吉久 徹 (副査) 教 授 西谷 秀男 (副査) 教 授 峰雪 芳宣 (副査) 教 授 高木 慎吾 (大阪大学大学院理学研究科) (副査) 准教授 園部 誠司

1. 論文内容の要旨

植物細胞の細胞分裂面の形成位置は preprophase band (PPB) と呼ばれる微小管およびアクチンからなる帯状構造が分裂期直前に分裂面形成予定位置に形成されることにより決定されると考えられている。PPB は分裂期には消失しているので、細胞板挿入予定領域 (cortical division zone; CDZ) には何らかのメモリー物質が残されていると考えられている。これまでに、メモリー物質の候補はいくつか報告されているが特定には至っていない。その理由として、等分裂する細胞ではメモリー候補物質に攪乱を与えても多くの細胞が正常な分裂を示すため、その評価が困難であることがあげられる。また、細胞板の正しい位置への形成にアクチン繊維がかかわっていると考えられているが、アクチン繊維の分裂期における構築の詳細や具体的機能については不明な点が多く残されている。これは、細胞板と親細胞の CDZ が近接しており、アクチン繊維の詳細な観察が困難であることが原因である。本研究は新たな実験系を構築し、この 2 つの問題にアプローチした。

分裂期に同調化したタバコ BY-2 細胞を遠心することにより、分裂装置 (紡錘体あるいは隔膜形成体) を移動させた後、培養して細胞板の形成位置を調べた。その結果、PPB が形成された細胞では細胞板は本来の位置に形成されていた。これは、移動した分裂装置が本来の位置 (PPB が存在した位置) に復帰したことを示している。一方、PPB が形成されない細胞では細胞板は移動した分裂装置の位置で形成されていた。これらの結果は BY-2 細胞において、PPB が細胞板位置の制御機構を有しており、細胞板を正常な位置に維持する (回

復する) 機能を有していることを示している。また、この実験系は細胞板挿入位置決定機構に関与するいろいろな因子の定量的な機能評価を可能にした。

この実験系を用いて、分裂装置の復帰運動並びにアクチン繊維のダイナミクスを live-cell imaging により明らかにした。分裂装置の復帰は核分裂終了後、細胞板形成開始と同時に始まることが分かった。遠心後、分裂装置が復帰しない細胞が見られたが、こうした細胞では細胞板と CDZ との間の actin cable の形成過程およびそれぞれの結合部位の様子が詳しく観察できた。また、分裂装置が全く復帰しない細胞では、CDZ の位置にアクチン繊維の集積がバンド状に観察され、この場所は actin depleted zone (ADZ) の形成場所と一致した。これらの発見は分裂装置を移動させ、分裂装置と CDZ の間に空間が生じたため可能になった結果であり、本研究で開発した実験系のメリットであった。

細胞表層のアクチン繊維のダイナミクスを明らかにするために、GLIM(Global - Local Live Imaging Microscope)を用いた観察を行った。その結果、分裂終期の開始とともに ADZ にアクチン繊維が復帰してくることが確認できた。このアクチン繊維が先に述べたバンド状のアクチン繊維と同等なものであると考えられる。遠心していない通常の細胞でも、ADZ へのアクチン繊維の復帰が見られ、ADZ へのアクチン繊維の集積は植物細胞が本来持っている機能であると考えられた。

以上の研究から申請者は細胞板挿入位置決定機構における「決定」と「記憶」に加えて、アクチン繊維が主導して細胞板を正しい位置に形成させる「遂行」という段階を設定することを提唱した。

2. 論文審査結果

これまで植物の細胞板挿入位置決定機構については PPB の構築と機能やメモリー物質の探索などに重点が置かれ、細胞板形成の最終段階についてはあまり注目されてこなかった。また、メモリー物質についてはいくつか候補はあるものの、その機能についての良い評価法がなく、特定できていない状況であった。本論文で申請者は新たな実験系を構築してこれらの問題に挑み、メモリー物質の機能の定量的な評価が可能であることを示した。また、この実験系を利用して細胞板形成時期のアクチン繊維のダイナミクスを明らかにした。中でも大きな発見はこれまで明らかにならなかった ADZ へのアクチン繊維の復帰とその時期の特定である。こうした表層のアクチン繊維の構築変化と、細胞板の形成開始および細胞板の CDZ への誘導が始まることが明らかとなり、終期の開始点が植物細胞の細胞質分裂において非常に特異な時点であることが示されている。

このように本論文は植物細胞の細胞質分裂の機構及び細胞板挿入位置決定機構の研究に重要な知見を与えるものである。

よって本論文は博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認める。

また、2018 年 8 月 2 日、論文内容およびこれに関連する事項について諮問を行った結果、合格と判定した。